

# ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ГЕПАТОЦИТОВ КАК МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ И КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ

*Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е.*

ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова» Минздравсоцразвития РФ, Москва

Перед выполнением трансплантации печени для коррекции и лечения тяжелой печеночной недостаточности предложено несколько способов применения гепатоцитов: в экстракорпоральных устройствах, а также путем трансплантации гепатоцитов и имплантируемых модулей, созданных на основе тканевой инженерии. Способность здоровых и устойчивых к болезням гепатоцитов осуществлять свою функцию может позволить пациентам с декомпенсированными хроническими заболеваниями печени стабилизировать свое состояние и дождаться донорского органа. В предлагаемом обзоре суммированы результаты экспериментальной и клинической терапии болезней печени методом трансплантации гепатоцитов.

*Ключевые слова:* трансплантация гепатоцитов, болезни печени.

## TRANSPLANTATION OF HEPATOCYTES AS THE METHOD OF TREATMENT OF LIVER FAILURE: EXPERIMENTAL AND CLINICAL EXPERIENCE

*Shagidulin M.Y., Onishchenko N.A., Krashennnikov M.E.*

Academician V.I. Shumakow Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow

For correction and treatment of liver failure before liver transplantation were proposed severe methods such as: extracorporeal devices, transplantation of hepatocytes and implanted tissue-engineering units. The function of healthy hepatocytes presumes to stabilize the state of patients with chronic liver diseases and to wait a donor organ transplantation. In this review the results of experimental and clinical therapy of liver diseases by method of hepatocyte transplantation were summarized.

*Key words:* hepatocyte transplantation, liver diseases.

### ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия в России, как и во всем мире, наметилась четкая тенденция роста заболеваемости, обусловленной необратимым поражением печени. Так, в мире количество больных с печеночной недостаточностью (ПН) уже достигает почти двух миллионов человек и продолжает расти, при этом использование стандартных терапевтических приемов не позволяет достичь удовлетворительных результатов. Смертность от ПН сохраняется на высоком уровне и достигает 70–90% при острой ПН [1–2]. Высокая смертность среди людей молодого и трудоспособного возраста, недостаточная эф-

фективность известных методов лечения требует их усовершенствования и разработки новых, патогенетически обоснованных способов детоксикации и нормализации обменных процессов [3].

Исследование современной литературы по лечению ПН показало, что трансплантация печени остается основным методом лечения, приводящим к выраженному клиническому эффекту с полной социальной реабилитацией больного [4]. Однако на пути расширенного осуществления этих операций в клиниках мира стоит непреодолимое препятствие – повсеместный и возрастающий дефицит донорских органов, а количество пациентов, находящихся в

*Статья поступила в редакцию 14.09.10 г.*

**Контакты:** Шагидулин Марат Юнусович, к. м. н., доцент, зав. отделом экспериментальной трансплантологии и искусственных органов.

**Тел.** 8-921-935-51-91, **e-mail:** dr.shagidulin@mail.ru

листе ожидания и нуждающихся в пересадке печени, продолжает расти [5]. И даже несмотря на постоянное увеличение количества трансплантаций печени за счет расширения селекционных критериев для доноров [6], количество умерших пациентов, так и не дождавшихся донорского органа, продолжает расти. Смертность в листе ожиданий у реципиентов печени достигает 15–25% [7].

Все это послужило основанием для поиска и разработки новых, альтернативных методов лечения ПН. Большое количество проведенных исследований в последние три десятилетия и недавние клинические исследования позволяют предположить, что трансплантация гепатоцитов (ТГ) полностью дифференцированных клеток может быть эффективной при лечении метаболических болезней печени и лечении ПН; метод ТГ может быть также использован как «мост» перед трансплантацией печени [8–11].

Наиболее удовлетворительные результаты получены при ТГ человека, так как пересаженные гепатоциты берут на себя функции поврежденной печени до того момента, пока не будет пересажена печень. В некоторых случаях ТГ стимулирует такой высокий уровень регенерации печени, что позволяет обойтись без трансплантации печени. На основании данных литературы и анализа полученных результатов можно констатировать: метод ТГ может быть эффективен при условии высокой жизнеспособности и метаболической активности качественных полученных человеческих гепатоцитов [12–17].

Определение показаний для ТГ, четкий отбор реципиентов для лечения методом клеточной трансплантации; качественное получение донорских органов; регламентирование процедур выделения, обработки, консервации, и имплантации гепатоцитов – вот необходимые условия для успешного применения этого метода коррекции и лечения ПН в клинике.

У метода ТГ для коррекции и лечения ПН есть несколько практических и теоретических преимуществ перед трансплантацией печени: техническая простота, доступность, безопасность, эффективность, меньшая летальность, минимальное количество осложнений, более низкая себестоимость (относительная дешевизна). Кроме того, изолированные гепатоциты могут длительно сохраняться (методом замораживания), что позволяет проводить трансплантацию клеточного материала в плановом порядке и повторно [14]. Причем один донорский орган может потенциально обеспечить клеточным материалом нескольких пациентов. Имеется также возможность проведения генной инженерии для пролонгированной регуляции специфических функций и жизнеспособности гепатоцитов *in vitro*, а также для иммуномодуляции этих клеток и последующей трансплантации без иммуносупрессии, по-

добно трансплантации аутологичных гепатоцитов [18–21].

Другим потенциальным преимуществом использования гепатоцитов является возможность создания иммортализованной (*immortal*) гепатоцитарной клеточной линии [20].

Метод получения изолированных гепатоцитов был разработан в середине 60-х годов прошлого столетия Howard et al. Для этого использовалась комбинированная механическая и ферментативная техника изоляции. Впоследствии эта методика в 1969 г. была модифицирована Berry и Friend [21], а в 1976 г. – Seglen [22].

Была стандартизирована перфузионная техника для получения гепатоцитов; определены требования, при которых источником получения клеточного материала могут служить донорские органы [12, 22, 23].

В настоящее время для выделения гепатоцитов используется двухэтапная перфузионная техника с использованием коллагеназы [28]; также предложена трехэтапная и четырехэтапная методика изоляции гепатоцитов [25].

## ИСТОЧНИКИ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ

### *А. Гепатоциты взрослых доноров.*

В большинстве экспериментальных и клинических исследований при ТГ использовались взрослые гепатоциты [17, 18].

Для клинического применения гепатоциты были изолированы/выделены из печени пациентов (аутологичные) или из донорской печени, которая в силу ряда причин не использовалась для трансплантации, например из-за длительной ишемии или чрезмерного жирового гепатоза. Другими потенциальными источниками клеточного материала являются: печень, полученная от доноров с небующим сердцем; маргинальные трансплантаты (выраженный стеатоз, травма печени); IV сегмент (с хвостатой долей или без нее) [15]; часть печени, полученной при split-технике, в которой печень используется для двух и более реципиентов [26].

### *Б. Фетальные гепатоциты.*

У фетальных гепатоцитов существует несколько характеристик, которые позволяют использовать их в качестве оптимального донорского материала, в частности их способность к чрезвычайно высокой пролиферации [27, 28]. Однако использование этого ресурса в клинике ограничено и требует дальнейшей комплексной систематической оценки, включая решение этических и юридических проблем.

### *В. Ксеногенные гепатоциты.*

Ксеногенная ТГ может стать альтернативой аллогенной ТГ. Проведенные в нескольких центрах

клинические исследования по лечению острой и хронической ПН, метаболических нарушений методом ксеногенной ТГ (свинных, кроличьих, собачьих) показали обнадеживающие результаты. Однако риск передачи таких заболеваний, как зоонозы, вирусные инфекции, иммуногенность, сдерживает широкое применение этого метода в клинической практике. Для преодоления проблемы иммунизации реципиента были предложены: техника инкапсуляции ксеногенных гепатоцитов, ультрафиолетовое облучение клеточного материала, позволяющие снизить иммуногенез трансплантатов *in vivo* [10].

#### Г. Иммутизированные гепатоциты.

Получение длительно живущей (иммутизированной) клеточной линии гепатоцитов является весьма привлекательной идеей, так как позволяет получить непрерывно культивируемую гепатоцитарную клеточную линию с сохранением большей части характеристик дифференцированного гепатоцита в неограниченном количестве [12, 19, 20]. В настоящее время биологическая безопасность пересадки иммутизированных гепатоцитов людям находится в процессе изучения, так как должны быть проведены исследования, позволяющие полностью исключить онкогенность пересаживаемого материала [19].

#### Д. Генетически модифицированные аутологичные гепатоциты.

Генетическая инженерия уже позволяет исправлять такую врожденную патологию, как семейная гиперхолестеролемиа [29].

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ОПЫТ

Концепция лечения ПН методом ТГ была высказана еще в 1967 г. Eiseman [30]. Первые попытки лечения ПН методом ТГ в эксперименте на животных выполнены Berry [21], а первая ТГ крысе с экспериментальной моделью синдрома Crigler–Najjar была произведена около 30 лет тому назад. Гепатоциты были пересажены гетеротопически и поддержку поврежденной печени обеспечивали на протяжении 48 ч [15].

Позже изолированные гепатоциты были пересажены крысам с индуцированной ПН, и также получен положительный клинический эффект [31]. На животных моделях были доказаны: возможность длительного выживания, пролиферации и метаболической активности пересаженных гепатоцитов [8]; возможность коррекции и лечения ПН; возможность длительной коррекции метаболических заболеваний печени [13].

На первых этапах разработки метода ТГ были отработаны протоколы введения изолированных гепатоцитов: в печень, в портальную вену, почку, под капсулу почки, легкое, поджелудочную железу, под

кожу, брюшную полость [12, 23, 32, 33]. Введение в брюшную полость позволяет вводить большее количество гепатоцитов, но не обеспечивает адекватной васкуляризации пересаженных клеток и их длительного функционирования, а также не создает каркас для прикрепления гепатоцитов. Все это приводит к ранней гибели пересаженных гепатоцитов. Для длительного выживания гепатоцитов, пересаженных в брюшную полость, был предложен метод инкапсулирования, или покрытия клеточного материала коллагеном [32].

Введение же гепатоцитов в печень имеет ряд преимуществ. Донорские гепатоциты:

- контактируют с гепатоцитами и непаренхиматозными клетками реципиента, секреторными пептидами;
- находятся в непосредственной близости с паракринными факторами;
- имеют возможность секретировать желчь в желчеотводящую систему реципиента;
- могут оставаться жизнеспособными и функционирующими в течение всего времени их существования.

Одним из главных факторов, ограничивающих технологию внутрипортального или внутриселезеночного введения гепатоцитов является недостаточное количество жизнеспособных клеток, которое может быть введено в эти органы без осложнений [12].

Независимо от места введения трансплантированные донорские изолированные гепатоциты сохраняют жизнеспособность короткий промежуток времени из-за отсутствия адекватных условий для их прикрепления и неоваскуляризации. Для того чтобы добиться длительного выживания и улучшения функции имплантированных изолированных гепатоцитов, для их прикрепления стали применять биологически совместимые матриксы. Вначале использовали двухмерные матриксы, позволяющие сосудам реципиента врастать в имплантируемые конструкции с гепатоцитами, таким образом интегрируя конструкцию с окружающими тканями [34]. С развитием новых технологий в качестве «носителей» клеточного материала стали использовать 3-мерные матриксы [35]. На следующем этапе развития метода ТГ стали активно использовать новые биосовместимые и биорезорбируемые материалы [36–38]. Применение ТГ на полимерных биосовместимых и биорезорбируемых матриксах снизило опасность возникновения осложнений (портальной гипертензии, легочной эмболии и др.) [39].

В настоящее время в имплантируемые биорезорбируемые конструкции кроме клеточного материала стали вводить различные биологические факторы, стимулирующие клеточную пролиферацию, дифференцирование, рост и т. д. [39].

С целью восстановления функций поврежденной печени продолжают интенсивные исследования по использованию прогениторных клеток печени и генной инженерии [40].

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования четко свидетельствуют об эффективности метода ТГ для лечения ряда заболеваний печени.

### КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ

Последние 10–15 лет благодаря прогрессу в области биотехнологии, молекулярной и клеточной биологии мощное развитие получила клеточная и тканевая инженерия, а в клинической практике особое внимание стали уделять совершенствованию перспективного метода ТГ для лечения ПН и стабилизации и подготовки реципиентов на трансплантацию печени [10].

ТГ (как нормальных, так и генетически модифицированных) может быть использована для коррекции и лечения ряда врожденных нарушений функций печени, ПН различной этиологии, гиперхолестеролемии, острой дислипидемии и др. [13] (табл. 1).

применению метода ТГ для лечения больных с острой или хронической ПН, коррекции метаболических дефектов или поддержки функции печени перед трансплантацией печени («мост» к трансплантации) [8, 14, 17].

### Применение метода трансплантации гепатоцитов (взрослых) для лечения метаболических болезней печени

ТГ при наследственных метаболических дефектах у детей – одна из немногих клеточных технологий, реально применяемых в клинике.

Врожденными нарушениями метаболизма страдают приблизительно 1 из 900 новорожденных. Первые попытки коррекции и лечения метаболических нарушений печени методом ТГ были выполнены с использованием генетически модифицированных аутологичных гепатоцитов у пяти пациентов с семейной гиперхолестеролемией.

Имеются сообщения о лечении методом аллогенной ТГ пациентов с дефицитом орнитин транскарбамилазы, дефицитом альфа-1-антитрипсина, с нарушением накопления гликогена I типа, синдромом Crigler–Najjar I типа, болезнью Вильсона–Коновалова, дефектом пероксисом, различными нарушениями обмена мочевины и гликогена, нарушениями свертывания крови [18, 26, 41].

Во всех этих наблюдениях применялась стандартная иммуносупрессивная терапия с использованием такролимуса и стероидов.

В 1998 г. Fox et al. опубликовали данные об успешном лечении синдрома Crigler–Najjar I типа в клинике [42]. После ТГ уровень билирубина снизился и оставался сниженным в течение 9–18 мес.

Pietrosi с соавт. (2009) проанализировали опыт лечения методом ТГ 27 детей с врожденными нарушениями метаболизма [27, 41, 42]. Среди этих пациентов наряду с детьми с нарушением цикла мочевины у троих был дефицит орнитин транскарбамидазы; а одна пациентка (девочка 3,5 года), страдающая дефицитом аргининсукцинатазы, во время курса лечения получила в общей сложности  $4,7 \times 10^9$  гепатоцитов за 11 введений. Всем пациентам гепатоциты вводились через портальную или пупочную вены. Анализируя результаты лечения, автор отмечает, что у 9-летнего ребенка с синдромом Crigler–Najjar I типа отмечено 50% сокращение уровня билирубина после ТГ. Спустя 2 года уровень билирубина вернулся к предтрансплантационным значениям, несмотря на жизнеспособность привитых аллогенных гепатоцитов [44]. Пяти пациентам с гомозиготной семейной гиперхолестеролемией были пересажены аутологичные, генетически модифицированные гепатоциты, которым *ex vivo* был трансдуцирован низкой плотности липопроте-

Таблица 1

**Заболевания печени, поддающиеся лечению методом трансплантации гепатоцитов**

Болезни печени	Нозологические формы
Генетические нарушения	Болезнь Вильсона–Коновалова Дефицит $\alpha$ 1-антитрипсина Эритропоэтическая протопорфирия Липидозы (болезнь Нимана–Пика) Тирозинемия I типа
Состояния метаболического дефицита	Конгенитальная гипербилирубинемия Семейная гиперхолестеролемия Синдромы гипераммонемии Дефекты метаболизма углеводов Оксалозы
Приобретенные нарушения	Острая печеночная недостаточность Хронические вирусные гепатиты Циррозы и печеночная недостаточность
Нарушения свертывания крови	Гемофилия А Дефицит IX фактора
Иммунные нарушения	Наследственная ангиоэдема

Начиная с 1992 г. и до настоящего времени было проведено несколько серьезных исследований по

ин ген-рецептор. У троих из 5 было отмечено более чем 20% сокращение холестерина на протяжении 28 мес. после ТГ [43].

Murasa M. с соавт. (2002) сообщили об успешном лечении методом ТГ дефицита VII фактора свертывания. Гепатоциты выделяли по методу Mitry [41] из сегментов печени 3 донорских органов, совместимых по АВО и не пригодных для трансплантации. Клетки использовали немедленно или подвергали кратковременному криохранению. Гепатоциты вводили в дозах 1 и 2 млрд через катетер, установленный в нижней брыжеечной вене. Иммуносупрессия включала метилпреднизолон (затем преднизолон) и такролимус. Метаболическая коррекция наблюдалась с первых дней после введения клеток и проявлялась в постепенном повышении концентрации фактора VII в плазме и в снижении дозы рекомбинантного фактора.

Dhawan A. с соавт. (2004, 2006) сообщили об успешном лечении 3 пациентов с дефицитом VII фактора свертывания. В результате произведенной ТГ было получено 80% сокращение экзогенного VII фактора на протяжении 6 мес. [41].

У двух детей с прогрессирующим семейным внутрипеченочным холестазом ТГ не привела к клиническому улучшению. Неудовлетворительный результат ТГ может быть объяснен выраженным фиброзом печени, который был выявлен при трансплантации печени этим пациентам [41].

Двенадцати пациентам, которым в качестве «моста» выполнена ТГ, впоследствии выполнена трансплантация печени (табл. 2).

### Применение метода трансплантации гепатоцитов для лечения острой печеночной недостаточности

Пациенты с фульминантной ПН имеют самую высокую летальность, находясь в листе ожидания, так как предполагаемая выживаемость при использовании всех современных методов консервативной терапии составляет всего 10%.

ТГ может потенциально снять явления острой ПН, поддержать функцию печени до восстановления (регенерирования) собственной печени или дождаться поступления подходящего донорского органа. Nabibullah с соавт. (1994) опубликовали результаты лечения 10 пациентов путем введения фетальных гепатоцитов (в кол-ве  $60 \times 10^6$ /кг веса тела интраперитонеально через диализный катетер). У троих из 10 отмечено восстановление неврологического статуса, понижение аммиака и уровня билирубина наступило спустя 48 ч после ТГ. Осложнений во время процедуры не наблюдалось [44].

Pietrosi с соавт. (2009) проанализировали опыт лечения 22 пациентов с острой ПН. Среди этих пациентов, которые были пролечены методом ТГ (табл. 3),

у 11 введение гепатоцитов произведено через селезеночную артерию, у 9 – через портальную вену, у 2 – через портальную вену и селезеночную артерию. У 9 пациентов был полный возврат заболевания (7 из них произведена ОТП). 2 пациента с вирусом herpes simplex и один с гепатитом В умерли [17, 45].

Strom et al. (1997) 5 пациентам с острой ПН произвел трансплантацию аллогенных гепатоцитов ( $10^7$ ) в селезенку. Все 5 пациентов дожили до трансплантации печени в отличие от 4 пациентов контрольной группы со стандартной терапией, которые не дожили до пересадки [47].

Таблица 2

#### Трансплантация гепатоцитов (взрослых) при метаболических нарушениях печени

Патология	Пациенты (27)	Количество жизнеспособных <sup>1</sup> клеток	Результат (умерло/ОТП)
Нарушение цикла мочевины (OTC/ASL/ASS:5/1/1)	7	$1,9-4 \times 10^9$	1/4
Синдром Crigler-Najjar I типа	6	$1,5-7,5 \times 10^9$	-/3
Гиперхолестеролемиа	5	$1,0-3,2 \times 10^9$	-/-
Дефицит фактора VII свертывания	3	$1,1-2,2 \times 10^9$	-/2
Другие <sup>2</sup>	6	$3,2-7,5 \times 10^9$	-/3

Примечание. <sup>1</sup> В 5 случаях было выполнено несколько введений клеточного материала; одному пациенту произведено 18 введений клеточного материала. <sup>2</sup> Гликогеноз I типа 1 (n = 2); др. метаболические заболевания (n = 1); прогрессирующий семейный внутрипеченочный холестаз (n = 2); дефицит  $\alpha 1$ -антитрипсина (n = 1).

Таблица 3

#### Трансплантация гепатоцитов (взрослых) при фульминантных повреждениях печени

Патология	Пациенты	Количество жизнеспособных клеток	Результат (умерло/живые/ОТП)
Фульминантная печеночная недостаточность	22		
ОПН обусловлена вирусами «В», «С»	6	$1,2 \times 10^8-3 \times 10^{10}$	3/3/2
ОПН обусловлена медикаментами	10	$2,8 \times 10^7-3,9 \times 10^{10}$	8/2/2
Идиопатическая	4	$1,8 \times 10^8-4 \times 10^9$	1/3/3
Другие <sup>1</sup>	2	$1,7 \times 10^8-4,9 \times 10^8$	1/1/-

Примечание. <sup>1</sup> Отравление грибами (n = 1); трисегмент-эктомия (n = 1).

С целью коррекции и лечения острой ПН применяют фетальные гепатоциты. Так, например, 7 пациентам с острой ПН фетальные гепатоциты были введены интраперитонеально. У двух пациентов с III стадией энцефалопатии после проведенного лечения энцефалопатия полностью исчезла. В контрольной группе пациентов (без ТГ) с аналогичной стадией энцефалопатии не наблюдалось выздоровления [14].

Bilir с соавт. (2000) сообщили об успешном лечении методом ТГ 6 пациентов с острой ПН [48].

Заслуживает внимания сообщение Fox с соавт. (2004) о том, что 20% пациентам с острой ПН после проведенной ТГ трансплантация печени не потребовалась [18].

В США метод ТГ используют в качестве «моста» перед трансплантацией печени при острой ПН [9, 48].

В одном из клинических исследований 5 пациентам с острой ПН была произведена трансплантация аллогенных криоконсервированных гепатоцитов. 4 пациентам гепатоциты вводились через селезеночную артерию и/или внутриворотально (2 пациента). Для иммуносупрессии использовали циклоспорин. У пациентов была III или IV степень энцефалопатии, уровень V фактора свертывания был менее 0,5 /мл; больные находились на диализе и ИВЛ. У трех из 5 пациентов, которые выжили более 10 сут, отмечено уменьшение энцефалопатии, улучшение клиренса антипирина и кофеина в течение 24–72 ч после ТГ [48].

20 пациентам с острой ПН, которые ожидали пересадку печени, произведена ТГ в различных учреждениях. 6 из них успешно дождались пересадки печени, которая состоялась через 1–10 дней после ТГ [45]. У 2 пациентов отмечена нормализация биохимических показателей, что позволило исключить их из листа ожидания на пересадку печени. 2 пациента полностью выздоровели, 10 пациентов умерли через 2 мес. после ТГ [45]. Подобные результаты выздоровления описаны и другими авторами [17]. В контрольной группе пациентов с острой ПН выздоровления не наблюдалось [12]. Эти исследования показывают важную роль ТГ во время критической фазы дисфункции печени при острой ПН [12].

В настоящее время при лечении острой ПН методом ТГ применяется также стандартная схема иммуносупрессии, основанная на такролимусе и стероидах.

### Применение трансплантации взрослых гепатоцитов для лечения хронических болезней печени и печеночной недостаточности

Лечение хронической ПН методом ТГ проводилось в нескольких центрах. Pietrosi с соавт. (2009)

проанализировали опыт лечения методом ТГ 20 пациентов с хронической ПН (табл. 4).

Таблица 4

#### Трансплантация гепатоцитов (взрослых) при хронических повреждениях печени

Патология	Пациенты	Количество жизнеспособных клеток	Результат (умерло/живые/ОТП)
Хронические заболевания печени	20		
Аутотрансплантация	10	$1,7 \times 10^7$ – $6,0 \times 10^8$	
Аутотрансплантация	10		4/6/3
Алкоголь	5		2/3/–
Дефицит $\alpha$ 1-антитрипсина	1	$2,2 \times 10^7$	–/1/1
Обусловлена хр. гепатитом С	1	$7,5 \times 10^6$	1/–/–
Другие <sup>1</sup>	3	$5 \times 10^8$ – $2 \times 10^9$	1/2/2

Примечание. <sup>1</sup> Криптогенный цирроз (n = 1); идиопатический фиброз (n = 1); реципиент печени (n = 1).

Впервые человеческие аутологичные гепатоциты были пересажены еще в 1992 г. в Японии 10 пациентам с циррозом печени. Гепатоциты были получены из левого латерального сегмента печени [49] и вводились в селезенку, в селезеночную артерию или портальную вену. Трансплантированные гепатоциты маркированные Tc-99m обнаруживались в селезенке от 1 до 6 мес. Следующим 10 пациентам ТГ производилась путем введения клеточного материала в селезеночную артерию (в двух случаях введение гепатоцитов было внутриворотальным). Манипуляция привела к уменьшению энцефалопатии, улучшению синтеза белков печенью, улучшению функции почек. Четыре пациента из 10 умерло. Реципиент печени с острой дисфункцией трансплантата умер от портального тромбоза, возникшего после введения гепатоцитов (табл. 4) [9, 45].

Имеются сообщения об успешном лечении 8 пациентов методом ТГ, гепатоциты вводились через селезеночную артерию [45].

Fisher в своем обзоре (2006) подробно проанализировал 78 клинических случаев ТГ за последние 13 лет [17]. Среди осложнений, которые наблюдались, следует отметить неустойчивую гемодинамику во время внутриворотального введения гепатоцитов; сепсис и эмболию при попадании гепатоцитов в малый круг кровообращения. Что касается портальной гипертензии, иногда возникающей при введении гепатоцитов в портальную вену, то во всех случаях наблюдений она была переходящей. Автор,

проведя анализ 78 случаев ТГ, отмечает, что пересаженные гепатоциты обеспечили клинический эффект и были получены убедительные доказательства приживления пересаженных гепатоцитов [17].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые технологии лечения и коррекции ПН методом ТГ могут позволить пациентам, находящимся в листе ожидания на трансплантацию печени, стабилизировать состояние и дождаться донорского органа.

Применение метода ТГ может способствовать уменьшению смертности при острой ПН и улучшать результаты лечения метаболических болезней печени.

Резюмируя мировой опыт клинического использования трансплантации гепатоцитов за последние 10 лет, можно сделать следующие выводы:

- 1) метод позволяет надежно корригировать метаболические дефекты (как наследственные, так и приобретенные (появляющиеся при развитии острой ПН различного генеза), связанные с нарушением функции гепатоцитов, в течение нескольких месяцев;
- 2) метод пока доступен только в специализированных на лечении ПН клиниках;
- 3) метод может служить в качестве «моста» перед трансплантацией печени;
- 4) более широкому распространению методов клеточной терапии в клинике и развитию ТГ будет способствовать поиск новых источников клеточного материала (культивирование собственных гепатоцитов, генно-измененных алло- и ксеногепатоцитов, клеточных линий, стволовых клеток трупной печени, клеток костного мозга, дифференцировка и экспансия собственных стволовых клеток).

Тем не менее необходимы дальнейшие исследования, направленные на изучение характеристик состояния вводимых клеток, способа их введения, определение количества вводимых клеток, определение временных границ, когда пациентам еще возможна ТГ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Дифференциальная диагностика и лечение внутренних болезней: Руководство для врачей. Т. 2. Болезни органов пищеварения / Под ред. А.И. Хазанова. М., 2003. С. 281–306.*
2. *Lui W.Y. et al. Evaluation of a simplified staging system for prognosis of hepatocellular carcinoma // J. Formos Med. Assoc. 2009. Vol. 98. № 4. P. 248–253.*
3. *Шагидулин М.Ю., Онищенко Н.А., Шумаков В.И. Современные методы лечения печеночной недостаточности в клинике перед трансплантацией печени // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2006. № 3. С. 56–62.*
4. *Muiesan P., Girlanda R., Jassem W. et al. Single-center experience with liver transplantation from controlled non-heart-beating donors: a viable source of grafts // Ann. Surg. 2005. Vol. 242. P. 732–738.*
5. *United Network for Organ Sharing. <http://www.unos.org>.*
6. *Moysyk Y.G., Sharshatkin A.V., Iljanov M.I. et al. Improved results of liver transplantation from extended criteria donors by shortening of the preservation, warm ischemic and operative time // Transplant international. 2007. Vol. 20. Supl. 2. P. 275.*
7. *[www.eurotransplant.nl/files/statistics](http://www.eurotransplant.nl/files/statistics).*
8. *Pietrosi G., Vizzini G.B., Gruttadauria S., Gridelli B. Clinical applications of hepatocyte transplantation // World J. Gastroenterol. 2009. Vol. 15. № 17. P. 2074–2077.*
9. *Strom S.C., Fisher R.A., Thompson M.T. et al. Hepatocyte transplantation as a bridge to orthotopic liver transplantation in terminal liver failure // Transplantation. 1997. Vol. 63. P. 559–569.*
10. *Smets F., Najimi M., Sokal E.M. Cell transplantation in the treatment of liver diseases // Pediatr. Transplant. 2008. Vol. 12. P. 6–13.*
11. *Palmes D., Qayumi A.K., Spiegel H.U. Liver bridging techniques in the treatment of acute liver failure // J. Invest. Surg. 2000. Vol. 3. P. 299–311.*
12. *Ohashi K., Park F., Kay M.A. Hepatocyte transplantation: clinical and experimental application // J. Mol. Med. 2001. Vol. 79. P. 617–630.*
13. *Gupta S., Chowdhury R.J. Therapeutic potential of hepatocyte transplantation // Cell & Developmental Biology. 2002. Vol. 13. P. 439–446.*
14. *Fox I.J., Chowdhury J.R. Hepatocyte transplantation // Am. J. of Transplantation. 2004. Vol. 4. P. 7–13.*
15. *Fox I.J., Roy-Chowdhury J. Hepatocyte transplantation // J. Hepatol. 2004. Vol. 40. P. 878–886.*
16. *Horslen S.P., Fox I.J. Hepatocyte transplantation // Transplantation. 2004. Vol. 77. P. 1481–1486.*
17. *Fisher R.A., Strom S.C. Human hepatocyte transplantation: Worldwide results // Transplantation. 2006. Vol. 82. P. 441–449.*
18. *Fox I.J., Chowdhury J.R. Hepatocyte transplantation // Am. J. Transplant. 2004. Vol. 4. P. 7–13.*
19. *Malhi H., Gupta S. Hepatocyte transplantation: new horizons and challenges // J. Hepatobiliary Pancreat. Surg. 2001. Vol. 8. P. 40–45.*
20. *Kobayashi N., Fujiwara T., Westerman K.A. et al. Prevention of acute liver failure in rats with reversibly immortalized human hepatocytes // Science. 2000. Vol. 287. P. 1258–1262.*
21. *Berry M.N., Friend D.S. High-yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells: a biochemical and fine structural study // J. Cell Biol. 1969. Vol. 43. P. 506–520.*
22. *Pareja E., Martínez A., Cortés M., Bonora A., Moya Á., Sanjuán F., Gómez-Lechón M.J., Miraa J. Hepatic cell transplantation. Technical and methodological aspects // Cir. Esp. 2010. Vol. 87. P. 139–147.*

23. *Mitry R.R., Hughes R.D., Dhawan A.* Progress in human hepatocytes: isolation, culture & cryopreservation // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2002. Vol. 13. P. 463–467.
24. *Lake J.* Hepatocyte transplantation // *N. Engl. J. Med.* 1998. Vol. 338. P. 1463–1465.
25. *Baccarani U., Sanna A., Cariani A. et al.* Isolation of human hepatocytes from livers rejected for liver transplantation on a national basis: results of a 2-year experience // *Liver Transpl.* 2003. Vol. 9. P. 506–512.
26. *Mitry R.R., Dhawan A., Hughes R.D. et al.* One liver, three recipients: segment IV from split-liver procedures as a source of hepatocytes for cell transplantation // *Transplantation.* 2004. Vol. 77. P. 1614–1616.
27. *Allen K.J., Soriano H.E.* Liver cell transplantation: The road to clinical application // *J. Lab. Clin. Med.* 2001. Vol. 138. P. 298–312.
28. *Sandhu J.S., Petkov P.M., Dabeva M.D., Shafritz D.A.* Stem cell properties and repopulation of the rat liver by fetal liver epithelial progenitor cells // *Am. J. Pathol.* 2001. Vol. 159. P. 1323–1334.
29. *Raper S.E., Grossman M., Rader D.J. et al.* Safety and Feasibility of Liver-Directed *ex vivo* Gene Therapy for Homozygous Familial Hypercholesterolemia // *Ann. Surg.* 1997. Vol. 223. P. 116–126.
30. *Eiseman B.* Treatment of liver failure // *Read AE, ed. Colston Papers № 19 The Liver.* London: Butterworths, 1967. 279 p.
31. *Guha C., Parashar B., Deb N.J. et al.* Normal hepatocytes correct serum bilirubin after repopulation of Gunn rat liver subjected to irradiation / partial resection // *Hepatology.* 2002. Vol. 36. P. 354–362.
32. *Kobayashi N., Ito M., Nakamura J. et al.* Hepatocyte transplantation in rats with decompensated liver cirrhosis // *Hepatology.* 2000. Vol. 31. P. 851–857.
33. *Nussler A., Konig S., Ott M. et al.* Present status and perspectives of cell-based therapies for liver diseases // *J. Hepatol.* 2006. Vol. 45. P. 144–159.
34. *Hasirci V., Berthiaume F., Bondre S.P. et al.* Expression of liver-specific functions by rat hepatocytes seeded in treated poly(lactic-co-glycolic) acid biodegradable foams // *Tissue Eng.* 2001. Vol. 7. P. 385–394.
35. *Ranucci C.S., Kumar A., Batra S.P., Moghe P.V.* Control of hepatocyte function on collagen foams: Sizing matrix pores toward selective induction of 2-D and 3-D cellular morphogenesis // *Biomaterials.* 2000. Vol. 21. P. 783–793.
36. *Shagidulin M.U., Onishchenko N.A., Krashennikov M.E. et al.* Working-out of intracorporated bioartificial liver support unit // *Journal of artificial organs.* 2008. Vol. 31. № 7. P. 656.
37. *Shagidulin M.U., Krashennikov M.E., Ilinsky I.M. et al.* Matrix *ElastoPOB®*3-D as a basis for immobilisation of tissue-specific and nonspecific cells and prolonged cellular-mediated inductive Influences on damaged organ // *The International Journal of Artificial Organs.* 2009. Vol. 32. № 7. P. 449–450.
38. *Shagidulin M.U., Krashennikov M.E., Ilinsky I.M. et al.* The long-term surviving *in vivo* autologous hepatocytes on 3D matrixes as a path of building of a hybrid liver // *Organ Donation Congress 10<sup>th</sup> ISODP & 16<sup>th</sup> ETCO.* 2009. Oct. P. 91.
39. *Uyama S., Kaufmann P.M., Kneser U. et al.* Hepatocyte transplantation using biodegradable matrices in ascorbic acid-deficient rats: comparison with heterotopically transplanted liver grafts // *Transplantation.* 2001. Vol. 71. № 10. P. 1–7.
40. *Malhi H., Irani A.N., Gagandeep S., Gupta S.* Isolation of human progenitor liver epithelial cells with extensive replication capacity and differentiation into mature hepatocytes // *Journal of Cell Science.* 2002. P. 2679–2688.
41. *Mitry R.R., Dhawan A., Hughes R.D. et al.* Hepatocyte transplantation for liver-based metabolic disorders // *J. Inherit. Metabol. Dis.* 2006. Vol. 29 (2–3). P. 431–435.
42. *Sokal E.M.* Liver transplantation for inborn errors of liver metabolism // *J. Inherit. Metab. Dis.* 2006. Vol. 29. P. 426–430.
43. *Grossman M., Rader D.J., Muller D.W. et al.* A pilot study of *ex vivo* gene therapy for homozygous familial hypercholesterolaemia // *Nat. Med.* 1995. Vol. 1. P. 1148–1154.
44. *Mazaris E.M., Roussos C.T., Papalois V.E.* Hepatocyte transplantation: a review of worldwide clinical developments and experiences // *Exp. Clin. Transplant.* 2005. Vol. 3. P. 306–315.
45. *Strom S.C., Chowdhury J.R., Fox I.J.* Hepatocyte transplantation for the treatment of human disease // *Semin. Liver Dis.* 1999. Vol. 19. P. 39–48.
46. *Fox I.J., Chowdhury J.R., Kaufman S.S. et al.* Treatment of the Crigler–Najjar syndrome type I with hepatocyte transplantation // *N. Engl. J. Med.* 1998. Vol. 338. P. 1422–1426.
47. *Strom S.C., Fisher R.A., Rubinstein W.S. et al.* Transplantation of human hepatocytes // *Transplant. Proc.* 1997. Vol. 29. P. 2103–2106.
48. *Bilir B.M., Guinette D., Karrer F. et al.* Hepatocyte Transplantation in Acute Liver Failure // *Liver Transplantation.* 2000. Vol. 6. P. 32–40.
49. *Mito M., Kusano M., Kawaura Y.* Hepatocyte transplantation in man // *Transplant. Proc.* 1992. Vol. 24. P. 3052–3053.